

# 我国牡蛎养殖种类的酯酶同工酶的比较研究

关云凌 郑运通

(中国水产科学研究院南海水产研究所)

**提 要** 本文采用聚丙烯酰胺凝胶电泳的方法,对我国养殖牡蛎的酯酶同工酶进行分析,获得了“近江牡蛎”(*Ostrea (Crassostrea) rivularis*)、“赤蚝”(*Ostrea* sp.), “褶牡蛎”(*Ostrea plicatula*)、“大连湾牡蛎”(*Ostrea talienwhanensis*)及引进种类“太平洋牡蛎”(*Crassostrea gigas*)等的酯酶同工酶酶谱。通过酶谱特征的比较,证实原为长牡蛎(*Ostrea (Crassostrea) gigas*)的种,实属“近江牡蛎”;而俗称“赤蚝”的个体,与“近江牡蛎”应属不同的种;“大连湾牡蛎”有别于“太平洋牡蛎”,应属独立的种群。

**关键词** 同工酶, 酯酶, 酶谱, 酶带

我国从本世纪二十年代开始,就对牡蛎的种类,进行了分类鉴定。广东省沿海俗称“白蚝”的个体,有近江牡蛎,学名为 *Ostrea (Crassostrea) rivularis*, 有长牡蛎,学名为 *Ostrea (Crassostrea) gigas*。后来又认为长牡蛎和近江牡蛎设有值得注意的不同。此外,形态上与“白蚝”的个体较难区分的、软体部稍带褐色、俗称“赤蚝”的个体,过去将它归并到近江牡蛎的种群中。但是有经验的蚝民,又能从形态上大致将它们分开。后来经过研究,发觉它们有着不同的生物学特点。因此,关于“白蚝”、“赤蚝”的种群问题,一直存在争议。同样大连湾牡蛎与太平洋牡蛎,有人认为是同种,有人认为各是独立的种。至于僧帽牡蛎,张玺等根据 Hirasa 的论文鉴定为 *O. cucullata*。但是后来认为 *O. cucullata* 属西非种类,与我国标本有区别,故将僧帽牡蛎改为褶牡蛎 *Ostrea plicatula*。近期,又认为还是僧帽牡蛎较合适。总之我国养殖牡蛎,有关种群的问题比较混乱,存在分歧而长期不能统一。鉴于上述原因。本文试图借助聚丙烯酰胺凝胶电泳的方法,分析和比较它们的酯酶同工酶酶谱的特征,进行判定。这种以海生双壳类为材料的酯酶同工酶方面的研究,及其种群的鉴定,在国内外还不多见。现将研究结果报告如下。

## 一、材料和方法

### (一) 样品的采集

牡蛎活样分别采自深圳、南头、银坑、香洲、横琴、台山、海丰、潮阳、集美、大连、温州等地。

### (二) 酶液的制备

采自各海区的活样,共同吊养在深圳湾海区的同一试验筏排上,暂养一周以上。取回实验室后即开壳,选取软体部完整无寄生他物的个体,以海生无脊椎生理盐水冲洗污

· 本研究属广东省科学基金资助项目。本试验所用牡蛎样本,经蔡英亚教授鉴定。在此深表感谢。

物，用滤纸吸干，在感量为0.01扭力天平上，准确称取外套膜组织。以海生无脊椎生理盐水作为酶液的摄取液，组织与摄取液(W/V)的比为0.12。在研钵中充分研磨，转入玻璃匀浆器中，反复匀浆15次(以上操作均在冰浴下进行)。并于 $6154.5 \times g$ 旋离30分钟。取上清液速冻。保存在冰箱的冷冻层内备用。聚丙烯酰胺凝胶的制备，系参照周光宇等报道的方法，并进行某些调整。

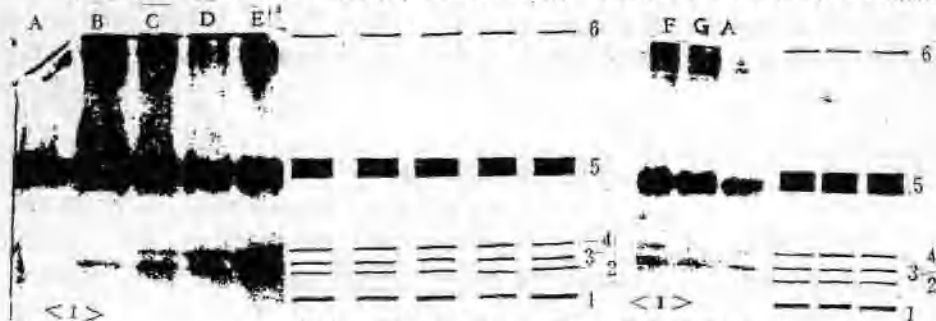
### (三) 仪器的使用

仪器为“ZYS100型夹心式垂直板凝胶电泳池。成层胶浓度为2.5%，分离胶浓度为7.5%。加样液50微升。电泳2.5-3小时。电压200伏，电流10-12毫安。染色采用特异性染色。保存在7%的醋酸溶液中。

## 二、结 果

### (一) “白蚝”酯酶同工酶谱

来自各地的“白蚝”，如图片1：I、II的A、B、C、D、E、F、G 7条酶谱，每一条



图片1 <I>、<II>、白蚝的酯酶的同工酶谱

A: 香州 B: 银坑 C: 清江 D: 台山 E: 横琴 F: 潮阳 G: 红草

酶谱上有酶带6条。靠近正极端的1条酶带紧随前沿线，带2、3、4相互靠近，酶谱的中部有1条染色较深且粗的强带。酶带6紧靠负极端。各酶带的Rf值(即比移值，系指酶带中线至起点的距离对前沿线至起点距离的比值)分别为0、0.48、0.77、0.80、0.82、0.97。来自各地“白蚝”的酶谱谱型完全相似。

### (二) “赤蚝”的酯酶同工酶谱

在酶谱(图片2: A)中有6条酶带。位于酶谱中部有2条强带。各酶带的Rf值为0、0.30、0.40、0.48、0.80、0.97。



图片2 赤蚝、长牡蛎、太平洋牡蛎的酯酶同工酶谱

A: 赤蚝(银坑) B: 太平洋牡蛎(日本) C: 长牡蛎(红草) D: 长牡蛎(潮阳) E: 近江牡蛎(台山)

### (三) 太平洋牡蛎的酯酶同工酶谱

太平洋牡蛎的酶谱中, 也出现 5 条酶带, 其强带在酶谱的中部与近江牡蛎相同。该酶谱的最大特征是, 在 5 的位置处, 有一明显的酶带 (图片 2: B)。各酶带的  $R_f$  值为 0、0.30、0.48、0.67、0.83、0.97。



图片 3 A: 太平洋牡蛎 B: 大连湾牡蛎 C: 褶牡蛎

### (四) 大连湾牡蛎、褶牡蛎的酯酶同工酶谱

大连湾牡蛎的酶谱出现 8 条酶带, 其中有一条强带位于酶谱的中部。强带二边各有一条酶带, 它们与强带之间的间距, 大致相等 (图片 3: B)。各酶带的  $R_f$  值为 0、0.34、0.50、0.57、0.65、0.77、0.92、0.98。

褶牡蛎的酶谱中, 呈现 7 条酶带。带 3、带 4 为强带。该酶谱的最大特征是: 除带 1、带 7 紧靠正负二极端外, 其余五条酶带的间距大致相等, 均匀排列在酶谱的中部。各酶带的  $R_f$  值为 0.03、0.54、0.60、0.75、0.83、0.97。图片 3: C 是它的酶谱。

## 三、讨 论

1. 我国曾鉴定为长牡蛎 (*O. gigas*) 的个体, 与引进种太平洋牡蛎 (*C. gigas*) 的酯酶同工酶谱, 均由 6 条酶带组成, 且都有一条强带, 其比移值也相同。但太平洋牡蛎在 5 和 7 的位置处, 各出现一条酶带, 而长牡蛎确在 3 和 4 的位置出现酶带 (图片 2: B、C), 所以它们的谱型存在差异。比较长牡蛎与近江牡蛎的酶谱 (图片 2: C、D、E), 以及比较它们的体型大小、贝壳形态变化甚大的个体, 不但酶带数相同, 各酶带的比移值也一致。所以酶谱谱型极为相似, 不存在种间差异。根据同工酶是基因的表达产物这一基本论点, 谱型不相似, 说明它们有不同的遗传基因。因此, 长牡蛎与太平洋牡蛎应属不同种群, 而与近江牡蛎属同一种群。也即说明: 广东省沿海养殖牡蛎中, 无长牡蛎和近江牡蛎之分“白蚝”个体, 均属近江牡蛎种群。李刚等 (1988) 在对“广东、福建沿海养殖牡蛎基因库的研究一文中, 也认为“白蚝”属近江牡蛎。因此, 我们的研究结果是一致的。

2. 俗称“赤蚝”的个体, 过去与“白蚝”统称“近江牡蛎”。但从它们的酯酶同工酶谱中看出: “赤蚝”酶谱的 6 条酶带中, 有 2 条强带 (图片 2: A), 而“白蚝”的 6 条酶带中, 只有 1 条强带 (图片 2: E)。所以谱型差异甚大, 存有明显的种间差异。因此, “赤蚝”、“白蚝”应属不同的种。至于“赤蚝”应定为何种, 有待进一步探讨。

3. 大连湾牡蛎与太平洋牡蛎应属不同的种, 这从它们的酶谱中, 可以清楚地看到 (图 3: B 和图片 2: B)。大连湾牡蛎的酶谱中, 出现 8 条酶带, 其中有 1 条强带, 另有 2

条酶带紧靠强带。这与太平洋牡蛎的酶谱特征不完全相似。此外，它们属不同的种，从它们的外部形态上面也表现出来。大连湾牡蛎从壳顶起伸出强大的脊，贝壳坚厚。而太平洋牡蛎贝壳较薄，靠近壳顶的鳞片趋于愈合，无明显的脊等。从大连湾自然海区，采集的牡蛎活样中，也获得太平洋牡蛎的酶谱（图片3：A），说明该海区太平洋牡蛎与大连湾牡蛎是共存的。这种现象有2种可能性，一是该海区原来就有太平洋牡蛎栖息，一是由于近年引种而来。至于它们有无通过杂交产生中间类型，有待进一步深入研究。

4. 褶牡蛎，在我国原由张玺等（1956），根据 Hizase 的论文，鉴定为僧帽牡蛎 *O. cucullata*。但后来认为它属西非种，与我国原定的僧帽牡蛎的个体有差异。故将我国养殖的僧帽牡蛎改名为褶牡蛎 *O. plicatula*。直到现在，有关该种的种名，仍有异议而未能确认。目前，我们尚未获得二者的酶谱，无法做出比较。文章中介绍的酶谱做为依据，供今后研究用之。

5. 牡蛎是广温、广盐性的海产双壳类，种类繁多，种群变异较大，仅靠贝壳形态等为依据的种群鉴定，给分类工作带来许多困难，甚至误认。我国地跨热带和温带、海岸线长，有记载的种类，多达20余种，为此，为了摸清我国牡蛎种群及其分化，更好地发展牡蛎养殖业，利用同工酶的分析鉴定方法，进行种群鉴定和系统研究，是现在分类工作中应予以重视和推广的技术。

### 参 考 文 献

- [1] 张玺等，1956，中国牡蛎的研究，动物学报，8（1）。
- [2] 张玺等，1959，近江牡蛎的养殖，科学出版社。
- [3] 关云凌等，1986，珠江口养殖特蛎某些生理生化指标的比较研究。贝类学论文集，第三辑，科学出版社。
- [4] 李刚等，1988，广东福建沿海大型养殖牡蛎（巨蛎属 *Crassostrea*）的种群基因库，南海海洋生物论文集，中国海洋出版社，P51—70。
- [5] 周光宇等，1979，遗传育种的生化指标——同工酶的分析，上海农业科技；No. 30。

3. According to  $EC_{50}$  value, the safe tolerance limit of the oyster larvae and juveniles in this experiment should be less than total ammonia-N 0.8 and 0.9mg/l ( $pH \leq 8.1$ ,  $25^{\circ}C$ ,  $Cl_2\%$  17.5), respectively. However, the tolerance of the oyster larvae at the mid umbo stage are either the weakest or not that yet needs more advanced study.

4. The lethal concentration (96-hr  $LC_{50}$  value) of un-ionized ( $NH_3-N$ ) for the juvenile oysters in this test was in fish range and crustaceans range as reported by other authors, and far lower than juvenile american oysters (*Crassostrea virginica*) and juvenile hard clams (*Mercenaria mercenaria*). However, the sublethal concentration was higher than the american oysters and similar to the hard clams.

5. This paper also used new shell growth test on the toxic examination of ammonia to juvenile oysters and made a primary comparison between feeding and new shell growth methods.